

2. *Ivány K. Növénytermesztés / K. Ivány, T. Kismányoky I. Ragasits. — Mezőgazda Kiadó, Budapest. — 1994. — 373 p.*
3. *Pepó P. Napraforgó termesztéstechnológiai vizsgálatok legújabb eredményei / P. Pepó, L. Zsombik // Gyakorlati Agrofórum. — 2003. — Vol. 14. — No. 3. — P. 15–16.*
4. *Radics L. Szántóföldi növénytermesztés / L. Radics // Szaktudás Kiadó Ház. — Budapest, 2003. — P. 237–344.*
5. *Vear F. Recurrent selection for resistance to Sclerotinia sclerotiorum in sunflowers using artificial infections / F. Vear, D. Tourvieille // Agronomie. — 1984. — No. 4. — P. 789–794.*

УДК 632.952.025 (045)

ФІТОЕКСТРАКТИ ЯК ОРГАНІЧНІ ФУНГІЦИДИ ТА МЕТОДИЧНІ ПІДХОДИ ДО ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ

А.В. Дrajнікова, Е.М. Попова, В.М. Кім

*Кафедра біотехнології Інституту екологічної безпеки
Національного авіаційного університету*

*Наведено результати скринінгу рослинної сировини для отримання екстрактів з високою біологічною активністю. Експериментально оцінено вміст танінів та поліфенолів у екстрактах виноградних вичавок та сфагнового моху. Визначено мінімальну концентрацію поліфенолів екстракту сфагнового моху, що інгібує проростання спор фітопатогенного гриба роду *Fusarium*. Розроблено рекомендації щодо здійснення пошуку перспективної рослинної сировини для виготовлення фунгіцидних препаратів. Запропоновано використання вичавків винограду, відходів винного виробництва та моху роду *Sphagnum* як сировини фенольних сполук з фунгіцидними властивостями.*

Ключові слова: таніни, поліфеноли, мох роду *Sphagnum*, рослинні екстракти, фунгіцидна активність.

До середини минулого століття в усьому світі для захисту рослин від шкідливих організмів використовували винятково фітоекстракти, спосіб приготування яких та вибір сировинного джерела залежали від кліматичних умов місцевості та унікальних властивостей рослин, визначених завдяки багаторічним спостереженням. Так, широко використовувалися настої з таких рослин роду *Allium*, як часник та цибуля [1]. У деяких країнах для захисту рослин використовували екстракти рослин роду *Nicotiana*, однак згодом вони були заборонені, оскільки містили небезпечну для здоров'я людей сполуку — нікотин [2].

Нині дедалі більше зростають вимоги суспільства до якості продукції, в т.ч. й до її

безпечності та екологічності процесу отримання. Так, постає завдання пошуку нових екологічно доцільних підходів до контролю шкідливих організмів рослин та заміни хімічних пестицидів на їх натуральні аналоги. Тобто спостерігається відновлення та повернення деяких традиційних методів у рослинництві.

Особливості пестицидів на основі фітоекстрактів, що визначають їх екологічність:

- фітоекстракти містять сполуки, споріднені до тих рослин, з яких вони отримані;
- компоненти фітоекстрактів легко деградуються мікроорганізмами ґрунту та під дією сонячного опромінення, що запобігає їх накопиченню в навколишньому природному середовищі;

© А.В. Дrajнікова, Е.М. Попова, В.М. Кім, 2013

- можливість використання широкого спектра сировинних джерел та багатокомпонентність фітоекстрактів, що унеможливає пристосування шкідливих організмів до таких засобів захисту рослин;

- деякі компоненти фітоекстрактів мають стимулюючі властивості, що сприяє підвищенню природного імунітету рослини.

На жаль, досі відсутні вітчизняні препарати захисту рослин на основі фітоекстрактів. Однак цей напрям досліджень та промислових розробок доволі стрімко розвивається в інших аграрних країнах.

В основі використання рослин як джерела отримання препаратів для контролю шкідливих організмів лежить їх властивість самостійно синтезувати широкий спектр вторинних метаболітів для пригнічення росту шкідливих організмів. Ці речовини об'єднуються під загальною назвою фітоалексинів, що за своєю хімічною характеристикою, в основному, є поліфенолами, алкалоїдами, терпенами та альдегідами. Всі ці сполуки, з одного боку, мають різні механізми дії на шкідливі організми, а з іншого, діють за принципом синергізму. До групи рослинних поліфенолів належить широкий спектр танінів. Деякі з них мають здатність до преципітації білкових молекул, чим блокують активність певних ферментів.

Метою досліджень була якісна та кількісна оцінка потенційної ефективності деяких рослин для отримання екстрактів біологічно активних поліфенолів, визначення фунгіцидної активності отриманих екстрактів проти фітопатогенного гриба роду *Fusarium* та розроблення методологічного підходу до пошуку рослинної сировини фітопестицидів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Для якісного визначення наявності танінів у тканинах рослин на зріз рослинного матеріалу наносили насичений розчин ваніліну в 95% етанолі. Поява червоного забарвлення через 15–30 хв у зоні контакту з реактивом свідчила про наявність танінів [3].

Розроблений нами спосіб екстракції фенольних сполук з рослинної сировини [4]

було модифіковано. Спочатку рослинний матеріал подрібнювали. Екстрагування здійснювали 50% розчином етанолу при температурі кипіння зі зворотним холодильником упродовж трьох годин. Співвідношення маси рослинного матеріалу (г) та розчину для екстрагування (см³) становило 1:5. Екстракт фільтрували та зберігали при температурі 4°C.

Вміст в екстрактах танінів, здатних до преципітації білкових молекул, визначали методом радіальної дифузії в гелі [5].

Вміст поліфенолів у екстрактах визначали фотометричним методом з використанням реактиву Фоліна – Чокольте [6]. Загальний вміст фенольних сполук виражали як еквівалент галової кислоти на 1 г сировини (мг ЕГК/г). Досліди проводили у трьох повторностях.

Фунгіцидні властивості екстрактів визначали *in vitro* за методикою Poison food technique [7]. Для цього в пробірці вносили 0,25, 0,5, 0,75 та 1 мл екстрактів, потім додавали 1 мл рідкого середовища Чапека та вносили 0,5 мл суспензії конідій *Fusarium* spp. зі щільністю 10⁶–10⁷ конідій/мл. Пробірки витримували впродовж 21 год при температурі 27°C. Потім візуально за відсутністю мутності у пробірці з відповідним розведенням екстракту визначали мінімальну концентрацію інгібування фенольних сполук екстракту. Досліди проводили у трьох повторностях.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На першому етапі досліджень за інтенсивністю забарвлення зон контакту зрізу рослини з ваніліновим реактивом здійснювали порівняльну оцінку наявності танінів. Так наприклад, слабке червоне забарвлення спостерігалось під час реакції на листку яблуні, помірне — на листку бузку та інтенсивне — на листку вишні (рис. 1).

Було виявлено, що листки вишні, сфагнового моху, толокнянки, кропиви, кульбаби, горобини, хлорофітуму та вичавки винограду містять порівняно більшу кількість танінів, ніж інші досліджувані рослини.

Отже, визначення танінів за якісною реакцією з ваніліном є простим у вико-

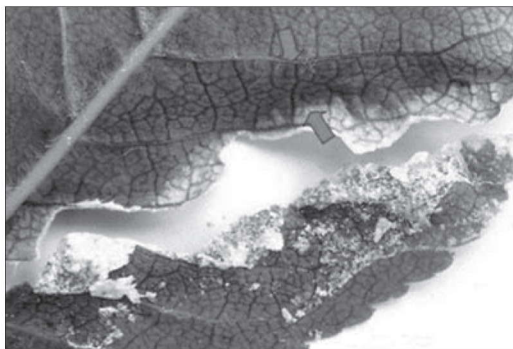


Рис. 1. Якісна реакція танінів з ваніліновим реактивом на листку вишні

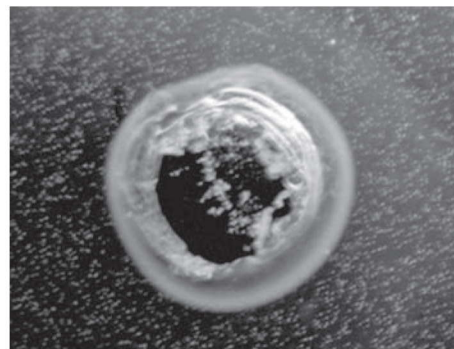


Рис. 2. Преципітація альбуміну в агаровому гелі навколо лунки з екстрактом листків толокнянки (масш. 1:2)

ристанні та ефективним методом дослідження.

На другому етапі досліджень нами була віддана перевага такій сировині, як вичавки винограду, листки вишні, кропиви, толокнянки, а також сфагновому моху. За вище описаним способом були напрацьовані екстракти з відповідної рослинної сировини. Надалі всю дослідну роботу проводили винятково з екстрактами.

Наступний етап скринінгу рослинної сировини — кількісне визначення вмісту танінів в екстрактах методом радіальної дифузії в гелі, внаслідок чого спостерігалась преципітація або розчинення альбуміну в агаровому гелі навколо лунки з екстрактом (рис. 2). За результатами визначення вмісту танінів у рослинних екстрактах таніни, здатні до преципітації білкових молекул, наявні тільки в екстрактах з вичавок ви-

нограду, листків толокнянки та сфагнового моху (табл. 1), тоді як компоненти екстракту листків вишні здатні до розчинення білкових молекул. Такі результати підтверджують відомі положення про різні механізми захисної дії вторинних метаболітів рослин. Ці дані дають змогу прогнозувати особливості дії фітоекстрактів на фізіологічні властивості патогенних організмів рослин. Але і преципітація білкових молекул, і їх розчинення — це механізми, які зрештою сприяють інгібуванню ферментних систем збудників хвороб рослин.

Наступним етапом досліджень був аналіз вмісту поліфенолів в отриманих екстрактах, результати якого наведено в таблиці 2.

Використання місцевої сировини знижує собівартість кінцевого продукту, оскільки немає потреби її транспортува-

Таблиця 1

Оцінка вмісту танінів, які сприяють преципітації білкових молекул, у екстрактах деяких рослин

Тип екстракту	Діаметр (D) зони преципітації білка або просвітлення
З вичавок винограду	Зона преципітації (8 мм)
З листків вишні	Зона просвітлення (12 см)
З листків кропиви	Відсутність зони преципітації або просвітлення
З листків толокнянки	Зона преципітації (10 мм)
Зі сфагнового моху	Зона преципітації (8 мм)

Таблиця 2
Вміст фенольних сполук у рослинній сировині

Рослинний матеріал	Вміст фенольних сполук, мг ЕГК/г
Вичавки винограду	10,95±0,64
Листки вишні	1,37±0,19
Листки кропиви	0,73±0,21
Листки толокнянки	31,82±0,40
Сфагновий мох	4,46±0,12

ти. Так, для південних районів України доцільним є використання виноградних вичавок — відходу виробництва вина. Толокнянку, рослину з найвищим вмістом фенольних сполук, занесено до Червоної книги України, що обмежує її масштабне використання як сировини для препаратів захисту рослин.

Нами було віддано перевагу саме сфагновому моху як потенційному джерелу фунгіцидних препаратів завдяки його поширенню. В Україні сфагновий мох особливо розповсюджений на території області між 52 та 48 паралелями.

Результати досліджень фунгіцидної активності екстракту сфагнового моху засвідчили, що за концентрації фенольних сполук 30 та 45 мкг ЕГК/мл помутніння зразків після інкубації мало відповідно інтенсивний та помірний ріст, а за концентрацій 60, 75 та 90 мкг ЕГК/мл його відсутність. Істотне інгібування процесу проростання спор спостерігається при концентраціях — 60–90 мкг ЕГК/мл. Так, мінімальна концентрація інгібування фенольних сполук сфагнового моху проти патогенного гриба роду *Fusarium* становить 60 мкг ЕГК/мл.

Отримані дані характеризують екстракт сфагнового моху як перспективний та ефективний засіб контролю фітопатогенних грибів рослин. Запропонований нами підхід до пошуку рослинних джерел та оцінки їх біологічної активності може бути використаний при роботі з будь-якими рослинами — потенційними сировинними джерелами органічних пестицидів.

Під час вибору рослинних джерел для отримання органічних пестицидів необхідно враховувати такі критерії ефективності:

- високий вміст біологічно активних сполук, наприклад, поліфенолів;
 - вартість та доступність сировини;
 - сезонність та строк придатності сировини;
 - можливість використання як сировини вторинних матеріальних ресурсів-відходів виробництв, наприклад виноградних вичавок;
 - екологічну безпечність технології отримання органічних пестицидів;
 - технологічність способу отримання органічних пестицидів;
 - кількість допоміжних матеріалів;
 - транспортні витрати на доставку сировини та матеріалів до місця їх безпосередньої обробки і використання;
 - витрати на утилізацію залишків рослинних матеріалів після їх використання;
 - екологічну безпеку процесів переробки використаної сировини.
- Екстракти фенольних сполук на основі сфагнового моху та виноградних вичавок задовольняють більшість з цих вимог. Їх перевагою є доступність і розповсюдженість сировинної бази.

ВИСНОВКИ

Розроблений нами методологічний підхід до визначення сировини органічних пестицидів може бути використаний для оцінки будь-яких рослинних матеріалів щодо розробки органічних пестицидів.

Встановлено, що екстракти сфагнового моху та виноградних вичавок містять таніни, які сприяють преципітації білкових молекул.

Експериментально підтверджено високий вміст поліфенолів у зразках сфагнового моху та вичавок винограду на рівні 4,46±0,12 та 10,95±0,64 мг ЕГК/г відповідно.

Визначено фунгіцидні властивості екстракту сфагнового моху та оцінено мінімальну концентрацію фенольних сполук сфагнового моху, що інгібує проростання

спор фітопатогенного гриба роду *Fusarium*, на рівні 60 мкг ЕГК/мл.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Marin S.* Plant Products in the Control of Mycotoxins and Mycotoxigenic Fungi on Food Commodities / S. Marin, V. Sanchis, A.J. Ramos // Natural Products in Plant Pest Management / Ed. by N.K. Dubey. — Preston, UK: CAB International, 2011. — P. 21–41.
2. Global Scenario on the Application of Natural Products in Integrated Pest Management Programmes / N.K. Dubey, R. Shukla, A. Kumar et al. // Natural Products in Plant Pest Management / Ed. by N.K. Dubey. — Preston, UK: CAB International, 2011. — P. 1–20.
3. *Vermerris W.* Phenolic Compound Biochemistry / W. Vermerris, R. Nicholson. — Dordrecht, The Netherlands: Springer, 2006. — 277 p.
4. Пат. 63697 Україна. Спосіб отримання препарату з фунгіцидною активністю / А.В. Дrajнікова, Е.М. Попова, І.В. Коцкій, О.В. Вініченко. — Опубл. 25.10.11, Бюл. № 20.
5. *Müller-Schwarze D.* Hands-On Chemical Ecology: Simple Field and Laboratory Exercises / D. Müller-Schwarze. — N. Y.: Springer, 2009. — 156 p.
6. *Singleton V.L.* Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent / V.L. Singleton, R. Orthofer, R.M. Lamuela-Raventos // Methods in Enzymology. — 1999. — Vol. 299. — P. 152–178.
7. *Onkar D.* Dhingra. Basic plant pathology methods, 2nd Edition / Onkar D. Dhingra, J.B. Sinclair. — Boca Raton, Florida, USA: CRC Press / Lewis Publishers, 1995. — 434 p.

УДК 581.143:577.175.1

INFLUENCE OF NEW PHYSIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF NATURAL ORIGIN ON NITROGEN METHABOLISM OF WINTER WHEAT

M. Draga

Інститут агроекології і природокористування НААН

Вивчено фізіологічний вплив N-оксиду піридину Триман та фізіологічно активних речовин Емістим та Агростимулін на азотний метаболізм пшениці озимої сорту Поліська 90. Препарати сприяли підвищенню загального вмісту азоту і нітратредуктазної активності в надземних органах пшениці озимої та збільшенню вмісту білка в зернівці і, в цілому, загальній продуктивності рослин. Найефективнішим препаратом природного походження виявився Емістим. Обґрунтовано, що застосування цих препаратів сприяє покращенню фізіологічного статусу пшениці озимої, особливо за несприятливих умов навколишнього природного середовища, та є перспективним засобом екологізації сільськогосподарського виробництва.

Ключові слова: регулятор росту рослин, пшениця озима, азотистий метаболізм, урожайність.

Plant growth regulators (GR) play an important role in enhancement the cereals productivity. Application of such regulators permits to regulate the most important processes in plants. An important result of application the growth regulators is the increase of plant

resistance of to unfavorable environmental conditions, such as excessively low or high temperatures, drought, phytotoxic action of pesticides, plague of infections and pests.

Institute of Bioorganic Chemistry and Petrol chemistry of Ukrainian National Academy of Sciences has conducted complex research of new plant growth regulators for the

© M. Draga, 2013